

THESIS

MUNICH

1966

ÜBER HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN DURCH
POLYOMA-VIRUS IN DER NIERE VON MÄUSEN
IN DEN ERSTEN 50 LEBENSTAGEN

Walter Kick

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor : Professor Dr. W. Büngeler

ÜBER HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN DURCH
POLYOMA - VIRUS IN DER NIERE VON MÄUSEN
IN DEN ERSTEN 50 LEBENSTAGEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfasst und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

WALTER KICK

aus Garching bei München

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. A. Georgii
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. Büngeler
Dekan: Professor Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 12. 1966

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALT

	Seite
A. EINLEITUNG	7
B. MATERIAL UND METHODE	9
I. POLYOMA - VIRUS (P-V)	9
1. Viruslinien	9
2. Virusvermehrung	9
3. Wirkung auf Mäuseembryonalkulturen	9
4. Inaktivierung der Impflösung	10
5. Hämagglutinationswirkung	10
6. Morphologische Spätveränderungen nach P-V-Infektion	10
II. VERSUCHSTIERE	10
III. VIRUSINFEKTION	11
IV. AUSWERTUNG DER VERSUCHSTIERE	11
C. ERGEBNISSE	12
I. HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN	12
1. 1. - 5. Beobachtungstag	12
2. 6. - 10. Beobachtungstag	13
3. 11. - 14. Beobachtungstag	14
4. 15. - 18. Beobachtungstag	14
5. 19. - 55. Beobachtungstag	14
6. Besondere Befunde	15
II. UNTERSCHIED ZWISCHEN SE-P-V UND ROWE-P-V	16
III. VERÄNDERUNGEN BEI KONTROLLMÄUSEN	16
D. ÜBER DIE BESTIMMUNG DER MITOSERATE	18
E. DISKUSSION	19
ERÖRTERUNG VERGLEICHBARER LITERATURBEFUNDE	22
F. ZUSAMMENFASSUNG	24
G. LITERATURVERZEICHNIS	25
TABELLEN	30
ADDENDUM	34
LEBENS LAUF	35

Die Untersuchungen wurden mit Sachhilfe und Geräten der Deutschen Forschungs-
gemeinschaft durchgeführt (Forschungsvorhaben Ge 121/6).

A. EINLEITUNG

GROSS (39) beschreibt zuerst die Entstehung von Parotistumoren bei Mäusen, die mit zellfreien Filtraten aus dem Gewebe an Leukämie erkrankter Mäuse beimpft worden sind. Später gelingt STEWART und EDDY (39) die Züchtung und Vermehrung des Erregers in Gewebekulturen, deren Ultrafiltrate bei Mäusen und Hamstern ein breites Spektrum solider Tumoren, aber keine Leukämien verursacht. Es entwickeln sich besonders Parotis-, Nieren-, Herz-, Mamma- und Knochentumoren, die teils bei ein und demselben Versuchstier entstehen. Wegen der Vielfalt der Geschwülste bezeichnen sie den Erreger als "Polyoma"-Virus (P-V). Viele Autoren haben seither über die Entstehung von Geschwülsten durch P-V berichtet, wobei das gleiche Virus bei verschiedenen Tierspezies derartige Geschwülste verursacht.

Über Tumorentstehung bei Mäusen berichten NEGRONI et al. (29), WALLACE et al. (41), BUFFET and LEVINHAL (4), LEUCHTENBERGER (25), KRÄMER (24), STEWART et al. (40).

Über Tumorentstehung bei Goldhamstern berichten BARSKI et al. (2), DEFENDI (5), STANTON and OTSUKA (38), AXELRAD et al. (1), STEWART (39), CHU and RABSON (6), EDDY et al. (11), RABSON et al. (31), GIMMY et al. (15), GRAFFI (16).

Über Sarkomentstehung bei der Ratte berichten STEWART et al. (39), GRAFFI et al. (16), GEORGII et al. (13), NEGRONI (29).

Über Tumoren beim Frettchen berichten HARRIES et al. (20).

GRAFFI et al. (17) beschreibt Tumoren beim Kaninchen und EDDY et al. (9) beim Meerschweinchen.

Über Geschwülste der Nieren, wobei es sich praktisch nur um Sarkome handelt, haben folgende Autoren berichtet: GRAFFI (16), ROMANUL et al. (32), CHU and RABSON (6), SJÖGREN and RINGERTZ (37), EDDY et al. (11), STEWART et al. (40), STANTON and OTSUKA (38), AXELRAD et al. (1), RABSON et al. (31), NEGRONI et al. (29), EDDY et al. (9), BUFFET and LEVINHAL (4), GEORGII und Ludwig (12).

Beschreibungen von frühzeitigen Nierenveränderungen durch P-V sind aufgrund cytologischer, histologischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen nieder-

gelegt bei HAM et al. (18), BERECKZY et al. (3), HOWATSON et al. (21), HOWATSON and ALMEIDA (22), STANTON and OTSUKA (38), SAXEN et al. (36), BUFFET and LEVINHAL (4), LEUCHTENBERGER et al. (25), STEWART et al. (40).

Nur spärliche Mitteilungen beschäftigen sich mit der Wirkung von P-V auf Mäusezellen des lebenden Versuchstiers. Die Mäuseniere scheint ein ausgezeichnetes Modell zum Studium P-V-bedingter Veränderungen zu sein, weil Frühveränderungen auftreten und weil Tumoren selten und erst nach langer Latenzzeit beobachtet werden; dagegen laufen in der Hamsterniere die Vorgänge zur Tumorentwicklung so schnell ab, dass einzelne Stadien der Frühveränderungen leicht übersehen werden können (HAM, 19). Offenbar gibt es zwei verschiedene Wirkungen des P-V auf die Zelle des lebenden Tieres oder der Organ- und Gewebekultur. Die eine betrifft die Cytolyse infolge der Virusreduktion, die andere betrifft die Transformation zur Tumorzelle. Es scheint aus dem Schrifttum hervorzugehen, dass bei den einzelnen Tierspezies und in der Gewebekultur unterschiedliche Wirkungen hinsichtlich der Replikation und Transformation auftreten.

Wir haben in unserem Labor herdförmige Nierenveränderungen bei Mäusen gesehen und, obwohl Nierensarkome kaum auftreten, zunächst wie LEUCHTENBERGER et al. (25) und HAM et al. (18) angenommen, dass hier die Frühentwicklung von Nierengeschwülsten zu sehen sei. Deshalb haben wir die Veränderungen an grösseren Versuchsreihen nach Infektion mit P-V fortlaufend lichtmikroskopisch untersucht. Wir beschränken uns auf die Darstellung der cyto- und histopathischen Veränderungen, wie sie bis zum 55. Tag nach der einmaligen Virusinfektion auftreten.

B. MATERIAL UND METHODE

1. POLYOMA-VIRUS (P-V)

1. Viruslinien

Für die Versuche wurden zwei Polyoma-Viruslinien verschiedener Herkunft verwendet :

a) Polyoma-Viruslinie von Frau Dr. S.E. STEWART, National Cancer Institute Bethesda, Md. (USA). Das SE-Polyoma-Virus (STEWART-EDDY-Polyoma-Virus) wurde in lyophilisierter Form übernommen, nach der Lagerung durch zwei Blindpassagen auf Babymäusen aufgefrischt und nun in mehr als zehn kontinuierlichen Passagen auf Mäuseembryonalkulturen gehalten; seine TCID₅₀ betrug 5×10^{-4} pro 0,5 ml in den vorliegenden Versuchen (GEORGII und WRBA, 14).

b) Polyoma-Viruslinie von Dr. W.P. ROWE, National Institute of Health, Bethesda, Md. (USA). Das ROWE-Polyoma-Virus wurde ebenfalls seit mehr als zehn fortgesetzten Kulturpassagen auf Mäuseembryonalzellen gehalten; sein infektiöser Titer betrug 2×10^{-4} pro 0,5 ml.

2. Virusvermehrung

Es wurden ausschliesslich einschichtige Zellkulturen von Mäuseembryonen verwendet. Das Nährmedium bestand aus Hankscher Salzlösung, inaktiviertem, defibrinisiertem Kälberserum und Hühnerembryonalextrakt im Verhältnis 7:2:1. Zusatz von 2500 E Penicillin und 10 mg Streptomycin pro ml Nährmedium. Nach dem Ansatz wurden die 2-3 Tage alten Primärkulturen durch Trypsinierung abgelöst und auf neue Flaschen aufgeteilt. Diese Zweitkulturen, gelegentlich Drittkulturen, wurden zur Virusvermehrung verwendet. 24 Stunden nach ihrer Subkultivierung durch Trypsin wurden die trockenen Kulturflaschen mit 0,5 ml Virus beimpft und abgedeckt und mit 10 ml Medium resuspendiert.

3. Wirkung auf Mäuseembryonalkulturen : (GEORGII und WRBA, 14)

Beide Virusarten verursachten in den Mäuseembryonalkulturen in etwa 6 Tagen einen cytopathischen Effekt (CPE), wodurch nach 8-10 Tagen die Zellkulturen zerstört wurden. Nach ausgebildetem CPE wurden die Kulturmedien plus Zellresten gefroren, nach dem Auftauen die grossen Partikel bei etwa 1500 g für 10 Minuten

abgeschleudert und der Überstand als Impflösung steril eingefroren. Alle Viruslösungen wurden in der Kühltruhe zwischen minus 24° C und minus 27° C bis zu Monaten aufbewahrt. Dadurch entsteht kein merklicher Verlust der Virusaktivität und Infektiosität (GRAFFI, 17; STEWART, 39). Kurz vor dem Verwenden wurden die Viruslösungen langsam bei Zimmertemperatur aufgetaut.

4. Inaktivierung der Impflösung

Die Viruslösung wurde nach dem Auftauen im Wasserbad von 65° C 15 Minuten erhitzt und somit inaktiviert; dieses Virus verursachte in Gewebekulturen keinen cytopathischen Effekt mehr.

5. Hämagglutinationswirkung : (GEORGII und WRBA, 14)

Beide Viruslinien hatten eine Hämagglutinationswirkung für Meerschweinchen- und Kaninchenerythrozyten, die zwischen 1:16 und 1:32 bei Untersuchung bis zu acht Tage alter Kulturflüssigkeiten in einer 1%igen Agargellösung lag, während die Agglutinationswirkung in physiologischer Kochsalzlösung noch geringer war. Deshalb konnten Virusnachweis und Aktivitätsbestimmungen durch die Hämagglutinations- bzw. Hämagglutinationshemmwirkung nicht durchgeführt werden.

6. Morphologische Spätveränderungen nach P-V-Infektion

SE-P-V und ROWE-P-V verursachten in eigenen Versuchen (GEORGII et al., 13) bei Mäusen, die innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt geimpft wurden, nach einer Latenzzeit von ca. 125 Tagen Spindelzellsarkome der Haut, solide Carcinome der Mamma, einzelne Spindelzellsarkome der Niere sowie einige andere Organumoren.

Ähnliche Versuche am Kaninchen ergaben nach ca. 6 Wochen percutan palpable Tumoren bis zu Erosengröße, die sich langsam zurückbildeten. Die histologische Untersuchung zeigte subkutane und intramuskuläre Fibrome.

Beim Goldhamster (GEORGII und LUDWIG, 12) verursachte das Virus 30% Nieren-sarkome neben anderen Tumoren in einer Manifestationszeit von 3-5 Wochen.

II. VERSUCHSTIERE

Verwendet wurden trächtige NMRI-Mäuse vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover und Mäuse der Süddeutschen Versuchstierzucht VOSS, Tuttlingen. Die Mäuse wurden zur Vermeidung einer Ektromelie-Infektion mit Pocken-Vaccine

(Landesimpfanstalt München) geimpft. Gefüttert wurde Pressfutter ALTKOMM bzw. MURILAN und Wasser aus Saugflaschen ad libitum. Jeder Wurf wurde mit dem Muttertier in Einzelkäfigen aus Makrolon mit Sägespäne-Einstreu gehalten. Alle Käfige waren im gleichen Versuchstierraum aufgestellt.

III. VIRUSINFEKTION

Die Babymäuse wurden in den ersten 24 Stunden nach dem Wurf mit einer Tuberkulinspritze (Nadel Nr. 12) durch 0,15 ml Viruslösung in einem langen Strichkanal in die Subkutis des Rückens, Nackens und Kopfes infiziert, wobei eine Quaddel der Haut entsteht. Um ein Herausfließen der Impflösung zu vermeiden, wurde die Impfwunde durch Fingerdruck leicht komprimiert.

IV. AUSWERTUNG DER VERSUCHSTIERE

Den getöteten Mäusen wurden beide Nieren zur histologischen Auswertung entnommen, im ganzen in Neutralformol fixiert und nach Paraffineinbettung in mehrere 5 μ dicke Schnitte aufgearbeitet. Die Färbungen erfolgten mit Phloxintoxylin/Eosin (HE) und mit Säurefuchsin nach Feulgen. Die HE-Schnitte wurden für die lichtmikroskopische Untersuchung, die Feulgen-Schnitte für die Bestimmung der Mitoserate verwendet.

Es wurden insgesamt 9 Versuchsreihen durchgeführt, die sich durch die verwendete Viruscharge oder die Mäuselinie unterschieden; weiter wurden folgende 4 Tiergruppen nach der Infektionslösung unterschieden:

V: Virusinfizierte Versuchsmäuse, die mit 0,15 ml Viruslösung beimpft wurden, in Tabelle 1 als "V" bezeichnet.

M: Kontrollmäuse, die lediglich mit 0,15 ml des Kultur-/Mediums der Viruslösung beimpft wurden; in Tabelle 1 als "M" bezeichnet.

I: Kontrollmäuse, die lediglich mit inaktivem Virus beimpft wurden; in Tabelle 1 als "I" bezeichnet.

U: Kontrollmäuse, die völlig unbehandelt blieben, aus der gleichen Zucht stammten und zur gleichen Zeit gehalten wurden; in Tabelle 1 als "U" bezeichnet.

Am 1. bis zum 55. Tag nach der Virusinfektion wurden praktisch täglich in jeder Versuchs- und Kontrollgruppe (siehe Tabelle 1) Babymäuse geopfert und die Nieren mikroskopisch ausgewertet. Eine vollständige Aufstellung unseres Untersuchungsgutes ist in der Tabelle 1 gegeben.

C. E R G E B N I S S E

Die histologisch gefundenen Veränderungen werden nach Beobachtungstagen geordnet, und alle Befunde werden jeweils für diesen Zeitraum besprochen. Bei Kontrollmäusen aufgetretene Veränderungen werden in einem eigenen Kapitel behandelt.

I. HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN

1. 1.-5. Beobachtungstag :

Es zeigen sich in der Niere keinerlei Unterschiede zwischen virusbeimpften, unbehandelten, mit inaktivem Virus oder mit Medium beimpften Mäusen. Histologisch findet sich folgendes :

Rinde und Mark sind noch nicht ausdifferenziert. Die Tubuli der äusseren Rinde sind wenig enfaltet und zeigen noch solide Sprossen mit cytoplasmaarmen grosskernigen Epithelien. Die Glomerula dieses Rindenabschnitts sind etwas kleiner, unreifer, mit unvollständig entwickelter Bowman'scher Kapsel; unreif heisst ein sehr hohes Kapselepithel und ein unvollständiges Umgreifen des äusseren Blattes um das Glomerulum. Von den sehr dicht gelagerten tubulären und glomerulären Sprossbildungen des äusseren Rindenabschnittes hebt sich das innere Rindenband infolge seiner weiter fortgeschrittenen Ausdifferenzierung der Tubuli cortici deutlich ab. Im Nierenmark sind die cytoplasmaarmen Tubulusepithelien dicht beieinander und einzelne oder ganze Tubulusabschnitte enthalten aufgelockerte Kerne, die wie odematös erscheinen. Das interstitielle Gewebe ist in Mark und Rinde im Vergleich zu älteren Mäusen wesentlich breiter und lockerer ausgebildet. In der Intermediärzone zwischen Rinde und Mark findet sich ein besonders maschiges lokales Faserstroma, das von den Markstrahlen und den darin liegenden, zumeist eng gestellten Henleschen Schleifen und Sammelröhren durchzogen wird. Veränderungen, die auf eine Viruseinwirkung zurückgeführt werden könnten, finden sich in den ersten 5 Beobachtungstagen nicht.

2. 6.-10. Beobachtungstag :

Dieser Zeitraum ist noch durch weitere Differenzierung und Wachstum der Niere gekennzeichnet. Die äussere Rindenschicht wird schmaler und lockerer, die innere Rindenschicht wird infolge des Wachstums der Hauptstücke breiter, das Mark nimmt ebenfalls an Umfang zu. Die Epithelien der Tubuli von Mark und Rinde werden plasmareicher und grösser und scheinen deshalb nicht mehr so dicht nebeneinander zu liegen.

Am 6. Tag finden sich in allen vier Versuchsgruppen auffällige Kernschwellungen, teils von Einzelzellen, teils von Zellgruppen, sowie zahlreiche Mitosen, besonders in den Markstrahlen. Die Kerne sind dabei bis zum doppelten Durchmesser vergrössert, Kernmembran und Nukleolen sind nicht wesentlich verdichtet. Bei einer einzigen Versuchsmaus (Tier-Nr. 202/27) finden sich am 6. Tag Nekrosen von Tubulusepithelien, Pyknosen und Detritus von Zellen, in der Umgebung Zellen mit Kernödem. Es lässt sich nicht sicher entscheiden, ob die Kernschwellungen bzw. Nekrosen nur die Epithelzellen oder auch Stromazellen betreffen. Diese Befunde dürften den frühesten virusbedingten Veränderungen entsprechen.

Am 7. - 10. Beobachtungstag finden sich nur Kernschwellungen an den Tubulusepithelien im Bereich der Markstrahlen, in der Pars recta der Henleschen Schleifen und in den Sammelrohren. Die Zellkerne sind ödematös bis zum zwei-, drei- und vierfachen Durchmesser geschwollen. Dies dürfte einer bemerkenswerten Volumenzunahme entsprechen. Durch die vakuolige und tropfige Auflockerung des Karyoplasmas erscheint das Chromatin am Kernrand verdichtet. Häufig durchziehen artifizielle Risse den ganzen Kern, die sich bei normalen Zellen nicht finden.

Am 8., 9. und 10. Tag bestehen neben den Kernschwellungen einzelner disseminierter Zellen auch Veränderungen an nebeneinander liegenden, die gesamte Tubuluslichtung betreffenden Epithelien. Dabei erscheinen sichere Einzelnekrosen, mit Pyknose und Karyorhexis, scholliger und eosinophiler Cytoplasmaveränderung.

Am 9. Tag treten an der Rindenmarkgrenze bei einem Tier (Tier-Nr. 163/26) ähnliche grosse herdförmige Nekrosen auf, wie sie bei dem Tier des 6. Versuchstages beschrieben sind.

Diese Veränderungen sind teils nur einseitig, teils in beiden Nieren nachweisbar. Pro Horizontalschnitt finden sich 2-3 solcher Bezirke. 22 von 79 P-V-beimpften Tieren zeigen derartige Veränderungen, das sind 27% (Tabelle 2).

3. 11. - 14. Beobachtungstag :

Wachstum und Differenzierung dauern bis in die dritte Lebenswoche an. Die Zweischichtung bildet sich ganz zurück und die Rinde besteht dann nur noch aus einer einzigen Schicht von Hauptstücken, Glomerula und Markstrahlen. Vor allem die Tubuli recti der Markstrahlen sind in dieser Zeit im Wachstum aktiviert : Zahlreiche Mitosen liegen besonders neben ödematös aufgetriebenen Kernen. Dies scheint häufiger bei Versuchstieren zu sein (siehe Abschnitt über Mitoserate). Bei einzelnen Versuchstieren bestehen noch Veränderungen, wie sie am 6.-10. Tag beschrieben wurden. Meistens bestehen aber sichere Nekrosen von Tubulusepithelien mit einer gleichzeitigen Schwellung und Vermehrung der benachbarten Stromazellen. Diese haben eine deutliche Hyperchromasie der Kerne. Oft sind Lymphozyten und Plasmazellen dazwischen eingestreut.

Die Veränderungen sind grundsätzlich in beiden Nieren nachweisbar, pro Horizontalschnitt etwa 2-3 derartige Bezirke. 23 von 68 P-V-beimpften Tieren zeigen Veränderungen, also 34% (Tabelle 2).

Auch bei Kontrolltieren treten vielfach in den Tagen 6-14 Schwellungen der Kerne auf, die den doppelten Durchmesser eines normalen Kernes erreichen. Das Karyoplasma ist jedoch nie vakuolig oder tropfig aufgelockert, auch fehlt eine Kernwandhyperchromasie. In einem Tubulus sind meist alle Epithelien gleichmässig von dieser Veränderung betroffen. Diese Befunde dürften einer funktionellen, d.h. wachstumsbedingten Kernschwellung entsprechen.

4. 15. - 18. Beobachtungstag :

38 von 56 virusbeimpften Tieren zeigen Veränderungen, also 68% (Tabelle 2). Nekrosen und Schwellungen der Epithelien mit Vermehrung der Stromazellen, wie im letzten Abschnitt beschrieben, treten nun bei fast allen Tieren auf. Zusätzlich bei fast der Hälfte der Tiere gehen diese Veränderungen über in ausgesprochen herdförmige oder noduläre Proliferationen der Stromazellen.

5. 19. - 55. Beobachtungstag :

35 von 40 virusbeimpften Tieren des 19. - 24. Tages zeigen Veränderungen, also 86%. Vom 26. Tag an erhöht sich der "Manifestationsindex" auf 93%, d.h. von 59 virusbeimpften Tieren zeigen 55 Veränderungen. Bei allen Tieren finden sich Nekrosen und Kernschwellungen der Tubuli mit einer beginnenden Vermehrung der Stromazellen, bei der Hälfte der Tiere treten zusätzlich noch Proliferationen auf,

die zu grösseren Knötchen heranwachsen durch eine Zunahme des Stromas. Dabei sind auffallend reichlich Mitosen in den Stromazellen. In den Randgebieten dieser "Noduli" liegen ödematös aufgetriebene Tubulusepithelien, einzelne in Nekrose übergehend. Eine weitere Veränderung lässt sich ab dem 19. Tag bei ca. der Hälfte der Tiere erkennen: Die Nekrosen liegen besonders in den Tubuli contorti in unmittelbarer Nähe der Glomerula. Die Glomerulumschlingen sind hyperämisch und verdickt. Durch die flächenhafte Ausbreitung der Nekrosen werden oft zwei oder mehrere Nierenkörperchen umschlossen. Im Bereich dieser Veränderungen zeigt sich gleichzeitig eine starke Proliferation der Stromazellen. Diese nodulären Veränderungen sind immer in beiden Nieren nachweisbar. In einem Horizontalschnitt sind stets mehrer solcher Herde, in einem Fall beispielsweise bei-
derseits etwa 40 teils solitäre, teils konfluierende Knötchen (Tier-Nr. 163/204).

6. Besondere Befunde:

a) Einschlusskörperchen: Nach diesen Veränderungen wurde besonders gesucht, weil sie als sicher virusbedingt und bei anderen Virusarten auch beim Menschen bekannt sind. Es haben sich bei 6 Mäusen im Cytoplasma der Tubulusepithelien oval-
oide eosinophile Einschlusskörperchen gefunden, mit einem Durchmesser von ca. 5μ , die von einem helleren Hof umgeben waren. Diese Veränderungen wurden ausschliesslich am 15. - 20. Versuchstag gefunden (Tier-Nr. 168/55, 164/75).

b) Perivaskuläre Infiltrate: Perivaskuläre Lymphozyteninfiltrate finden sich vom 11. - 24. Tag vereinzelt, vom 26. - 55. Tag bei etwa der Hälfte der Versuchstiere. Sie liegen besonders entlang mittelgrosser Gefässe an der Rindenmarkgrenze und im Mark selbst. Nach dem 26. Tag verdichten sich manche bis zu lymphomartiger Grösse.

c) Tubuläre Ektasien: Vom 18. Tag an finden sich bei Versuchstieren vereinzelt tubuläre Erweiterungen. Dabei zeigen die Tubuli eine stärkere Schlangelung, eine Ausweitung der Lichtung und eine Abflachung der Epithelien. Dazwischen liegen auch etwas vermehrt Stromazellen im Interstitium. (Tier-Nr. 163/191, 163/192, 202/83)

d) Sarkomähnliche Veränderungen am 55. Beobachtungstag: Einzelne Veränderungen am 55. Tag sind besonders erwähnenswert. Bei allen 7 Versuchstieren (Tier-Nr. 202/82 a, 202/82b, 83-87) zeigen sich Nekrosen und Stromaproliferationen. Bei einem Versuchstier (Tier-Nr. 202/83) ist das gesamte Parenchym eines Nierenpoles zerstört. Es finden

sich zahlreiche Nekrosen, die noch erhaltenen Epithelien sind stark verändert; Zwischen den nekrotischen und teils dilatierten Tubuli breiten sich multiple noduläre Stromaproliferationen aus, die teils konfluierend in einander übergehen. Die spindelförmigen Stromazellen stehen dicht aneinander gelagert, ohne wesentliche Faserbildung. In der Rinde treten tubuläre Ektasien auf, wie sie oben beschrieben sind. An der Rindenmarkgrenze und im Mark erscheinen grosse perivaskuläre Infiltrate, mit betont lymphomartigem Charakter.

II. UNTERSCHIED ZWISCHEN SE-P-V UND ROWE-P-V

Wir stellten geringe Unterschiede der beiden Viruslinien nur in quantitativer Hinsicht fest. So fanden sich bei SE-P-V-beimpften Tieren ab dem 12. Tag ca. 80% der Nieren verändert (49 von 60 Tieren), bei ROWE-P-V fanden wir ab dem 12. Tag nur ca. 60% der Nieren verändert (26 von 43 Tieren). Vom 25. Tag an verursachten beide Viruslinien in gleicher Weise in fast 100% der Versuchstiere Veränderungen. Nekrosen des Epithels hatten vor dem 12. Tag 7 von 17 Mäuse nach SE-P-V-Infektion, dagegen nur 2 von 17 nach ROWE-P-V-Infektion. Ausserdem zeigten sich nach ROWE-P-V pro Horizontalschnitt weniger Veränderungen als nach SE-P-V. Die um einige Tage längere Inkubationszeit, der niedrigere Manifestationsindex zu Beginn des Experiments und die quantitativ geringeren Veränderungen bei ROWE-P-V sprechen für eine langsamere Ausbreitung der Virusinfektion und somit für eine geringere Wirkung. Grundsätzlich fanden sich jedoch die gleichen qualitativen Veränderungen in beiden Viruslinien.

III. VERÄNDERUNGEN BEI KONTROLLMÄUSEN

Die Mäuse der 3 Kontrollgruppen U, I, M (siehe Tabelle 1) zeigten im allgemeinen nicht die bei P-V-Infektionen aufgetretenen Veränderungen. Allerdings fanden wir in der Versuchsreihe 1 (Kontrollgruppe U und M) bei 3 Tieren (nach 26, 30 und 34 Tagen) Tubulusveränderungen mit geringer Stromavermehrung, die bei den P-V-infizierten Veränderungen der Versuchsgruppe V nur bis zum 14. Tag aufgetreten waren. Bei je einem Kontrolltier der Versuchsreihe 3 und 2 (jeweils Kontrollgruppe U) fanden wir am 13. und 17. Tag typische P-V-bedingte Veränderungen der Tubuli und des Stroma, wie sie zur selben Zeit bei Versuchstieren aufgetreten waren. (Tier-Nr.

163/240, 163/238, 163/264, 168/37, 202/77). Denkbar wäre eine unbeabsichtigte Stallinfektion, da alle Käfige im gleichen Raum aufbewahrt wurden. ROWSON (34) beschrieb eine derartige Infektion, obwohl Kontroll- und Versuchstiere in verschiedenen Räumen des gleichen Stockwerks gehalten wurden. ROWE et al. (33) sowie YABE et al. (42) untersuchten mit Hilfe des Hämagglutinationshemmungstestes die Verbreitung von P-V in Laboratoriums-Mäusekolonien und fanden eine besonders starke Durchseuchung dort, wo mit P-V gearbeitet wurde. Schon nach kurzer Zeit konnte ROWE bei neueingebrachten Mäusen P-V-Antikörper nachweisen.

Bei mehreren Mäusen, die mit inaktivem Virus injiziert wurden, fanden wir typische P-V-bedingte Veränderungen. In 3 Fällen (10., 11., 12. Tag) sind die Veränderungen noch so gering ausgebildet, dass die Beurteilung unsicher ist (Tier-Nr. 163/56, 163/36, 168/31). In 7 von 9 Fällen (14.-19. Tag) waren jedoch die typischen Kernschwellungen der Tubulusepithelien mit beginnender herdförmiger Stromaproliferation vorhanden (Tier-Nr. 168/35, 39, 45, 51, 52, 58, 61). Für die Erklärung dieser Befunde ist anzunehmen, dass das verwendete P-V ungenügend inaktiviert war. Zwar wurde das Virus 15 Minuten im Wasserbad auf 65° C erhitzt und zeigte in der Gewebekultur keinen CPE mehr, doch hat SE-P-V nach EDDY (10) eine erhebliche Resistenz gegenüber chemischen und physikalischen Einwirkungen. Bei Erhitzung auf 60° C für 30 Minuten soll es keine Wirkungseinbuße erfahren.

Auch induzierte eine Viruslösung, die durch Erhitzen auf 70° C für 30 Minuten "inaktiviert" und jungen Hamstern injiziert wurde, Tumoren nach einer langen Latenzzeit.

D. ÜBER DIE BESTIMMUNG DER MITOSERATE

Wir bestimmten an über 200 nach Feulgen gefärbten Nierenschnitten die Mitoserate, vor allem von den Tagen 1-20. Pro Tier wurden 2 mal je 1000 Zellen im Mark und 2 mal je 1000 Zellen in der Rinde ausgezählt und die dabei vorkommenden Mitosen geordnet nach Prophase, Anaphase, Metaphase und Telophase. Bei der Zählung verwendeten wir eine Blende für ein quadratisches Gesichtsfeld mit einer dreifach unterteilten Zählkammer. Es wurde Gesichtsfeld an Gesichtsfeld gereiht. Dabei ergab sich ein deutlicher Unterschied im Wachstum zwischen Rinde und Mark in den ersten Tagen bei allen Tieren. Am 5. Tag reduziert sich das Wachstum in der Rinde (Tabelle 3 und 4). Weil nicht alle Mitosen gleich gut zu erkennen waren und die Schwankungsbreite bei der Bestimmung der einzelnen Mitoseraten zu gross war, liessen sich keine vergleichenden Aussagen zwischen Versuchs- und Kontrolltieren mit der für biologische Abläufe nötigen Signifikanz machen; trotzdem halten wir es für möglich, dass am 7./8. und am 11./12. Tag bei Versuchstieren ein stärkeres Wachstum der Epithelien vorherrschte als bei Kontrollen. Besonders an diesen Tagen fanden wir zahlreiche Mitosen in den Epithelien der Markstrahlen, oft in unmittelbarer Umgebung von ödematösen Tubuluszellen mit fein eosinophil granuliertem Cytoplasma. Mit anderen Methoden, wie planimetrische Bestimmung der Mitosezahl (CATER and STACK-DUNNE, 5) oder Markierung der Mitosen durch ^3H -Thymidin (NOL-TENIUS et al., 30; LUDWIG und GEORGI, 26) und der Auszählung einer noch grösseren Anzahl von Zellen wären die Veränderungen des 7./8. sowie des 11./12. Versuchstages erneut zu überprüfen.

E. DISKUSSION

Die Ergebnisse unserer Versuche zeigen in der Niere P-V beimpfter Mäuse gleichzeitig zwei Prozesse: Kernschwellung der Tubulusepithelien, die teils als degenerative, cytolytische Kernveränderungen zur Nekrose der Zellen führen können, neben Proliferation, vor allem des interstitiellen Bindegewebes der Rinde mit Bildung kleiner Knötchen und Knoten infolge eines ausgesprochenen herdförmigen Befalls. Die epithelialen Veränderungen gehen dabei dem Stromawachstum um einige Tage voraus. Alle Veränderungen sind herdförmig, multipel und beidseitig ausgebildet. Die Anzahl der Herde schwankt dabei zwischen 2-5 pro Nierenschnitt. Die Herde sind anfangs häufiger an der Rindenmarkgrenze lokalisiert, die Tubuli recti der Markstrahlen betreffend, während erst später die Tubuli contorti beteiligt werden. Die Glomerula bleiben weitgehend unverändert. Vom 26. Tag an finden sich bei etwa der Hälfte der Nieren perivaskuläre Lymphozyteninfiltrate, vereinzelt tubuläre Ektasien und eosinophile Einschlusskörperchen in Epithelzellen, letztere jedoch nur vom 15.-20. Tag.

Die beschriebenen Veränderungen sind auf die Wirksamkeit von P-V zurückzuführen, weil sie bei den Kontrolltieren nicht gefunden werden. Die Aktivität und Reinheit des verwendeten Virus wurde in parallel laufenden Versuchen an Mäuseembryonalkulturen, Kaninchen und Goldhamster und Erythrocyten-Agglutination nachgewiesen.

P-V gelangt hämatogen, nach der Infektion oder bei der Virämie in die Nieren und wird im Urin ausgeschieden (MEARL, 38; KRAEMER, 23, 24). Auffallend ist, dass gerade anfangs die Tubuli recti und später die Tubuli contorti verändert sind. Der Weg des Virus zum Nierenepithel ist ungeklärt: Es könnte eine Rückresorption des bereits filtrierten Virus durch das Tubulusepithel oder auch eine unmittelbare hämatogene Infektion durch die die Epithelien versorgenden Gefäße erwogen werden.

Wir stellen in unseren Versuchen eine zeitliche Zunahme der Veränderungen fest, die einerseits den Herd selbst, zum anderen die Anzahl der Herde pro Schnittpräparat betrifft. In den Herden bestehen anfangs nur einzelne disseminierte Kernschwellungen, später sind ganze Epithelreihen eines Tubulus, dann mehrere Tubuli umfassende Veränderungen mit begleitender herdförmiger Stromaproliferation, und schliesslich sind es

grossherdige, Glomerula umschliessende Nekrosen, die sich entwickeln. Auch die Zahl der Polyoma-Herde pro Niere nimmt zu. Während anfangs nur wenige Herde pro Schnitt bestehen, kommt es später zu multiplen Knötchen; in Einzelfällen wurden bis zu 20, in einem Fall bis zu 40 solitäre oder konfluierende Herde pro Horizontalschnitt gezählt. Diese Zunahme der Veränderungen könnte durch Ausbreitung der Infektion im betroffenen Organ erklärt werden. Einen Hinweis dafür geben die Untersuchungen von KRÄMER (23,24), der bei P-V beimpften Mäusen noch nach 8 und mehr Wochen eine Virusausscheidung im Speichel, Fäces und Urin nachgewiesen hat.

Manche Versuchstiere haben lange nach der Infektion nur geringfügige Veränderungen, wie sie üblich in einem früheren Stadium zu finden sind; und nur einige zeigen keinerlei histologische Veränderungen der Niere, trotz Infektion mit dem gleichen Virus (Tabelle 2). So lässt sich bei insgesamt 368 Versuchstieren nur bei 173 histologisch eine Infektion nachweisen, was einem Manifestationsindex von 47% entspricht (Tabelle 1). Bei dem klaren Anstieg von Polyoma-Herden in Relation mit der Versuchsdauer (Tabelle 2) steht die Annahme einer ständig zunehmenden Virusausbreitung neben einer verlängerten Viruseklipse zur Diskussion. Eine unbeabsichtigte unterschiedliche Virusapplikation, etwa durch ungenaue Injektionstechnik, für den unterschiedlichen Befall anzuschuldigen, erscheint bei der engen zeitlich-prozentualen Korrelation kaum glaubhaft. Dass dosisabhängige Wirkungen erreicht werden können, ist ausser Zweifel, wie vergleichbare Experimente an Hamstern (MEARL, 38) und bei der Sarkomerzeugung an Ratten (GEORGII et al., 13) gezeigt haben. Solche Dosisunterschiede können jedoch für die vorliegenden Untersuchungen als technische Fehler keineswegs unterstellt werden. Der anfänglich geringe ungleiche Befall der Versuchstiere (27%-34%, Tabelle 2) dürfte zu erklären sein durch die natürliche Resistenz, durch stille Feiung der Muttertiere und durch genetische Unterschiede bei unseren nicht keimfrei gehaltenen und nicht ingezüchteten Mäusen, als den entscheidenden Faktoren. Vielmehr ist sicher eine zunehmende Virusausbreitung anzunehmen, die wohl als Superinfektion mit Virus der Käfiggenossen erfolgt.

Somit ist Schwellung der Tubulusepithelien eine der wesentlichen Veränderungen, die unser Polyoma-Virus verursacht. Die Bedeutung der sehr erheblichen Kernschwellung, teilweise wird ein 4-facher Durchmesser gleichbedeutend mit immenser Volumenzu-

nahme festgestellt, ist noch offen. Nur degenerativ-cytolytische Veränderungen wegen der gefundenen Einzelzellnekrosen anzunehmen, scheint wegen der gleichzeitigen Proliferation neuer Zellen nicht gerechtfertigt. Die nachgewiesene, enorm gesteigerte DNS-Synthese unterstreicht die Annahme der Zellproliferation bei sichtbarer Vermehrung der Tubulusepithelien ohnehin (GEORGII und LUDWIG).

Die Proliferation des Bindegewebes ist sicher nicht durch eine transformative Wirkung des P-V bedingt, sondern eine Reaktion auf die Epithelveränderungen in ihrem Zentrum. Es müssten sonst wesentlich mehr Sarkome gefunden werden, denn Virus-Transformation bedeutet unabänderliche Überführung in die Tumorzelle. Die enge lokale Beziehung zwischen tubulären Veränderungen und Vermehrung von rundzelligen Elementen im Interstitium lässt an örtliche immunologische Vorgänge denken. Auch BUFFET (4) deutet die Infiltrate als immunologische Reaktion, die gut mit der Antikörperproduktion korreliert werden könne. Während BUFFET (4) ausschliesst, dass es sich dabei um maligne Lymphome handeln könne, beschreiben HAM (21) und andere Autoren ebenfalls einzelne Lymphome bei Versuchs- und sogar bei Kontrolltieren, die mit Kulturmedium behandelt worden sind. Einige unserer Präparate zeigen am 55. Tag einen lymphomartigen Bau. HAM (21) et al. erklären dies durch Verunreinigung mit Leukämie-Virus, das durch Haltung in den Gewebekulturen oder in den Tieren selbst aktiviert werde. Schliesslich sei auch zu erwägen, so meint HAM, ob sein Toronto-P-V selbst die Lymphome induzieren könne. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen perivaskulären Infiltraten und P-V scheint sicher zu sein, weil keines der Kontrolltiere diese Veränderungen hat.

Wir haben bereits berichtet über ovaloide, eosinophile Einschlusskörperchen von ca. 5μ Grösse im Cytoplasma von tubulären Epithelzellen. Diese Veränderungen werden ausschliesslich am 15.-20. Versuchstag gefunden und sind auch bei anderen Virusarten und auch beim Menschen als sicher virusbedingt bekannt. LEUCHTENBERGER et al. (25) beschreibt ebenfalls intraplasmatische Einschlüsse von 1-2,5 μ Grösse und intranukleare Einschlüsse. BUFFET (4) beschreibt ebenfalls derartige Einschlusskörperchen. Über die Natur dieser Einschlusskörperchen ist wenig bekannt, manchmal lassen sich Viruspartikel nachweisen (BERECZKY et al., 3).

Bei einigen Versuchstieren finden wir regionale Ektasien der Harnkanälchen, die an

tubuläre Adenome der Nierenrinde erinnern. BUFFET (4) beschreibt ebenfalls glanduläre Proliferationen, die bis zu cystischen Adenomen gehen. Auch STEWART (40) erwähnt zwei Beispiele einer extremen Dilatation der Tubuli mit papillenartiger Abfaltung des Epithels. Unsere eigenen Befunde möchten wir als narbige Schrumpfung des Interstitiums mit nachfolgender tubulärer Erweiterung deuten; wir glauben nicht, dass es sich um das Wachstum einer echten Geschwulst handelt. Über ein Carcinoma in situ in der Nierenrinde 50 Tage nach P-V-Infektion mit Herden hyperchromatischer epithelialer Zellen, starker Kernpolymorphie und gestörter Kernplasmarelation berichtet BUFFET (4); ob diese Veränderungen unseren grossen Polyoma-Herden entsprechen, die wir am 55. Tag gefunden haben, vermögen wir nicht zu entscheiden. BUFFET (4) beschreibt gleichzeitig im Mark auftretende multizentrische Mikrosarkome. Wir haben nur ganz vereinzelt (bei 2 von 200 über 125 Tage alten Mäuse, Tier-Nr. 135/5, 134/20, GEORGII et al., 13) echte Nierentumoren gefunden, und das waren ausschliesslich Sarkome.

ERÖRTERUNG VERGLEICHBARER LITERATURBEFUNDE

Polyoma-Virus wird im Zellkern gebildet, wie aus dem gleichzeitigen DNS-Anstieg mit Immunofluoreszenzmikroskopisch sichtbarem Virusanstieg hervorgeht (LEUCHTENBERGER et al., 25) und weil mitunter Viruspartikel gesehen werden können. (BERECKZY et al., 3). BUFFET and LEVINHAL (4) haben ähnliche Befunde der Immunofluoreszenz von Virusantigen in den Zellkernen erhoben. Nekrosen der Zellen sollen durch eine intrazelluläre Vermehrung der Viren bedingt sein, wie HOWATSON et al. (21, 22) und NEGRONI et al. (29) und GRAFFI et al. (16) und HAM (19) gezeigt haben, durch elektronenmikroskopische Untersuchungen der Viruspartikel. Schliesslich sollen die in Folge der Zellnekrose frei werdenden Viren gesunde Zellen der Umgebung im Sinne einer horizontalen Ausbreitung infizieren und damit die fortschreitende Cyto-lyse verursachen (Mc. CULLOCH, 7).

Unsere Untersuchungen belegen und erweitern die Vorstellung einer kleinherdigen, geringen Primärinfektion mit einer durch neugebildetes Virus erfolgenden horizontalen Ausbreitung, wie wir eingangs besprochen haben. Die von uns beschriebenen vaku-oligen Kernveränderungen, die Ausbreitung im Tubulusepithel und die begleitende Stromareaktion wird bei Mäusen nach Polyoma-Infektion ebenfalls beschrieben von BUFFET (4), LEUCHTENBERGER (25) und STEWART (39). Bei Hamstern werden da-

gegen andere Veränderungen gefunden (STANTON and OTSUKA, 38). HAM et al. (18) beschreiben beim Hamster nach Infektion mit der sog. Toronto-Linie des P-V eine Degeneration des interstitiellen Bindegewebes, der eine Proliferation nachfolgt; dagegen stellen sie heraus, dass das Epithel der Nierenrinde nicht durch Virus befallen wird. Die Proliferation des Bindegewebes überwiegt sehr bald und in nur 25 Tagen entwickeln sich Sarkome. NEGRONI (28,19), der mit der sog. Mill-Hill-Linie des P-V Mäuse beimpft hat, berichtet ausschliesslich von proliferativen Veränderungen des Stromas, die schon am 3. bzw. 7. Tag beginnen. In unseren Versuchen an Mäusen können wir nur in Ausnahmefällen eine Nekrose von Stromazellen des Nierenmarks beobachten. In Gewebekulturen aus Mäusenieren werden durch Mill-Hill-P-V die Epithelzellen zerstört, während die Fibroblasten länger überleben (NEGRONI, 28). Sobald dem Medium der Kulturen Antikörper zugesetzt werden, proliferieren nur die Fibroblasten und können andere Kulturen infizieren. NEGRONI vermutet, ein ähnlicher Mechanismus trete in der Niere infizierter Hamster auf, die nur eine Vermehrung der Stromazellen zeigen.

Wesentlich andere Befunde hat SAXEN (36) an Organ- bzw. Stückchenkulturen embryonaler Nieren der Maus in vitro erhoben; nach Infektion mit SE-P-V hat sich gezeigt, dass das undifferenzierte Mesenchym der Niere sehr empfänglich für P-V ist. Es zeigen sich Nekrosen des Stroma und nicht des Epithels. Nach SAXEN soll die Virusinfektion grundsätzlich am undifferenzierten Mesenchym beginnen, während Epithel der Tubuli nur sekundär befallen wird, wobei offen ist, ob das Epithel nur wegen der Stromanekrosen zugrunde geht. Diese Beobachtungen an Organkulturen stehen im Gegensatz zu den an lebenden Mäusen gewonnenen Erfahrungen, wo unsere ebenso wie alle anderen Berichte die tubulären Epithelveränderungen als primär bezeichnen.

Polyoma hat zwei grundsätzlich verschiedene Wirkungsweisen: Einmal repliziert es sich in seinen Wirtszellen, die dabei regelmässig zugrunde gehen; das trifft zu für alle Zellkulturen, in denen das Virus gehalten und vermehrt wird. Zum anderen transformiert es bei geeigneter Versuchsanordnung (DULBECCO, VOGT, 27) eben solche Kulturzellen zu Tumorzellen, die damit allerdings die Fähigkeit einbüssen, neues Virus zu bilden. In unseren Untersuchungen offenbart sich die erstgenannte cytotocide Wirkung des Virus, wobei die Beobachtung, dass Zellnekrosen und Proliferation begleitet von Einschlusskörperbildung auch die Virusvermehrung nahelegt. Nachweisbar

ist die Virusvermehrung in unseren Untersuchungen natürlich nicht; aber alle Befunde, wie die erwähnten Epithelveränderungen und die Zunahme und Ausbreitung der Herde während der Versuchszeit sind dringende Hinweise dafür. Ergebnisse anderer Autoren, mit dem elektronen- und immunfluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Viruspartikeln im Kern, verstärken die Berechtigung unserer Annahme, dass das P-V im Tubulusepithel der Mäusenieren gebildet wird. Unsere Versuchsergebnisse sind somit ein erster Hinweis auf die Niere als Ort einer latenten Replikation von P-V, die für die stille Durchseuchung ganzer Mäuselinien mit dem Virus verantwortlich sein könnte.

Neben dieser cytociden und virusreplikativen Verhaltensweise des P-V finden sich in unseren Ergebnissen vom 1. - 55. Versuchstag keine Hinweise einer transformativen Potenz; erst nach einer Latenzzeit von 125 Tagen und nur ganz vereinzelt sind Tumoren der Niere aufgetreten, während die cytociden Vorgänge bei der Mehrzahl der Tiere deutlich werden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Wir haben die Wirkung von Polyoma-Virus in der Niere von Mäusen untersucht, die als neugeborene infiziert und vom 1. bis zum 55. Tag nach der Infektion ausgewertet werden. Die lichtmikroskopische Untersuchung zeitlich aufeinander folgender Versuchstiere ergibt herdförmige Veränderungen stets beider Nieren. Im wesentlichen handelt es sich um Kernschwellung der Tubulusepithelien, die in Nekrose übergehen können, und damit verbunden wohl reaktive Rundzellinfiltrate im Interstitium, die schliesslich zu typischen von uns Polyoma-Herde genannten Veränderungen führen. Die Veränderungen beginnen am 7. bis 12. Tag bei einzelnen Tieren und vom 25. Tag an zeigen fast alle Tiere diese Herde. Die Form der Kernveränderungen, die Art der Ausbreitung und die von anderer Seite (HOWATSON et al., 21, 22) im Zellkern nachgewiesene Virusvermehrung sprechen dafür, dass hier im Tubulusepithel der Mäuseniere die Neubildung von Polyoma-Virus erfolgt.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. AXELRAD A.A., E.A. Mc. CULLOCH, A.F. HOWATSON, A.W. HAM and L. SIMINOVITCH
Induction of tumors in Syrian hamsters by a cytopathogenic virus, derived from a C₃H mouse mammary tumor.
J. nat. Cancer Inst. 24, 1095 (1960)
2. BARSKI G., ZB. CHLAP, T. GOTLIEB-STEMATSKY, M. CHARLIER
Neoplasms and haemorrhagic disease induced in adult hamsters with Polyoma virus.
Nature (Lond.) 193, 298 (1962)
3. BERECHKY E., DMOCHOWSKI L., CLIFFORD E.
Study of host-virus relationship, I. light, phase, and fluorescence mikroscopy of mouse-embryo cells infected with Polyoma virus.
J. nat. Cancer Inst. 27, 99 (1961)
4. BUFFET R.E. and J.D. LEVINHAL
Polyoma virus infection in mice.
Arch. Pathol. 74, 513 (1962)
5. CATER D.B., M.P. STACK-DUNE
The rate of decay of mitotic activity in the adrenal cortex of the rat, following J. Physiol. 127, 265 (1955) hypophysectomy.
6. CHU E.W. and A.S. RABSON
Production of tumors in Syrian hamsters after oral administration of Polyoma virus.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113, 592 (1963)
7. Mc. CULLOCH E.A.
Viral Carcinogenesis
Canad. Med. Ass. J. 86, 1143 (1962)
8. DEFENDI V.
Induction of tumours by Polyoma in adult hamsters.
Nature (Lond.) 183, 503 (1960)

9. EDDY B.E., G.S. BORMANN, R.L. KIRSCHSTEIN and R.H. TOUCHETTE
Neoplasms in Guinea pigs infected with SE-Polyoma virus.
J. Infect. Diseases. 107, 361 (1960)
10. EDDY B.E.
The Polyoma Virus (Section B):
Advances in Virus Research 7, 91 (1960)
11. EDDY B.E., S.E. STEWART, R. YOUNG and G. BURROUGHS MIDER
Neoplasms in hamsters induced by mouse tumor agent passed in tissue culture.
J. nat. Cancer Inst. 20, 747 (1958)
12. GEORGII A. und B.LUDWIG
Nierenveränderungen durch SE-Polyoma-Virus
Verh. dtsh. Ges. Pathol. 49, 212 (1965)
13. GEORGII A., W. KICK, K. PRECHTEL und B. LUDWIG
Spätveränderungen bei Mäusen, Kaninchen, Ratten und Goldhamster durch Poly-
oma-Virus.
Nicht veröffentlichte Arbeiten.
14. GEORGII A. und H. WRBA
Über die Entstehung des cytopathogenen Effektes durch drei verschiedene Poly-
oma-Virus-Linien in Mäuseembryonalkulturen.
Z. Krebsforsch. 65, 532 (1963)
15. GIMMY J., A. GRAFFI und L. KRAUSE
Über die Wirkung des polyvalenten Sarkom-Virus beim Goldhamster
Acta biol. med. germ. 3, Heft 5 (1959)
16. GRAFFI A.
Angemeldeter Diskussionsbeitrag über das Polyoma-Virus.
Berliner Symposium über Fragen der Carcinogenese Dez. 1959, Akademie-Verlag
(Berlin 1960)
17. GRAFFI A., J. GIMMY, L.BAUMBACH und F.SCHNEIDERS
Zur Histologie der durch den BB/T2-Polyoma Virusstamm bei Kaninchen und Meer-
Acta bioi. med. germ. 9, 167 (1962) (schweinchen induzierten Geschwülste.

18. HAM A.W., E.A. Mc. CULLOCH, A.A. AXELRAD, L.SIMINOVITCH
and A.F. HOWATSON
The histological sequence in viral carcinogenesis in the hamster kidney.
J.nat. Cancer Inst. 24, 1113 (1960)
19. HAM A.W.
Tumour Viruses of Murine Origin, Discussion p 298 (BURNET, LATARJET, STOKER,
NEGRONI, KAPLAN, METCALF, STEWART).
Ciba foundation Symposium, London I. & A. Churchill 1962
20. HARRIS R.J.C., F.C. CHESTERMAN, G. NEGRONI
Induction of tumours in newborn ferrets with Mill-Hill-Polyoma virus.
Lancet, 1, 780 (1961)
21. HOWATSON A.F., E.A. Mc. CULLOCH, J.D. ALMEIDA, L. SIMINOVITCH
A.A. AXELRAD and A.W. HAM
Studies in vitro, in vivo, and by electron microscope of a virus recovered from a
C₃H mouse mammary tumor : Relationship to Polyoma virus.
J.nat. Cancer Inst. 24, 1131 (1960)
22. HOWATSON A.F., J.D. ALMEIDA
An electron microscope study of Polyoma virus in hamster kidney.
J. Biophysic. Biochem. Cytol. 7, 753 (1960)
23. KRAEMER P.M.
Polyoma virus dose response studies in mice. I. Dwarfing, tumor incidence, and
antibody response of animals infected in the neonatal period
J. nat. Cancer Inst. 26, 437 (1962)
24. KRAEMER P.M.
Polyoma virus dose response studies in mice. II. Characteristics of induced salivary-
gland tumors.
J. nat. Cancer Inst. 28, 455 (1962)
25. LEUCHTENBERGER R., LEUCHTENBERGER C., S.E. STEWART, B.E. EDDY
Difference in host-cell-virus relationship between tubular epithelium and
stroma in kidneys of mice infected with SE-Polyoma virus.
Cancer, 14, 567 (1961)

26. LUDWIG B. und A. GEORGI

Über die DNS-Synthese in den Ballonzellen der Niere nach Infektion mit SE-Polyoma-Virus.

Z. Naturforsch. 20b, 1309 (1965)

27. MUNK

Grundzüge der Virusätiologie von Tumoren nach neuen Ergebnissen.

Ergeb. Mikrobiol., Immunitätsforsch. exp. Therapie 38, 224 (1964)

28. NEGRONI G.

The properties of Mill-Hill-Polyoma virus.

Tumour Viruses of Murine Origin, Ciba Foundation Symposium, London I.&A.

Churchill (1962)

29. NEGRONI G., R. DOURMASHKIN, F.C. CHESTERMAN

A. Polyoma virus derived from a mouse leukaemia.

Brit. Med. J. 11, 1359 (1959)

30. NOLTENIUS H., H.SCHELLHAS, W. OEHLERT

Histoautoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin der Tubuluszellregeneration nach akuter Sublimatvergiftung von Ratten.

Beitr. pathol. Anat. 129, Heft 1 (1963)

31. RABSON A.S. and R.L. KIRSCHSTEIN

Intracranial sarcomas produced by Polyoma virus in Syrian hamsters.

Archiv. Pathol. 69, 663 (1960)

32. ROMANUL F.C.A., B. ROIZMANN, CH.N. LUTTRELL

Studies of Polyoma virus.

Bulletin of the Johns Hopkins Hospital 108, 1 (1961)

33. ROWE W.P., L.W. LAW, and R.J. HUEBNER

Studies of mouse Polyoma virus infection. III. Distribution of antibodies in laboratory mouse colonies.

J. Exp. Med. 109, 449 (1959)

34. ROWSON K.E., F.J.C. ROE, J.K. BALL and M.H. SALAMAN
Induction of tumours by Polyoma virus : Enhancement by chemical agents.
Nature (Lond.) 191, 893 (1961)
35. SACHS L. and D. MEDINA
Polyoma virus mutant with a reduction in tumour formation.
Nature (Lond.) 197, 715 (1960)
36. SAXEN L., T. VAINIO, S. TOIVONEN
Effect of Polyoma virus on mouse kidney rudiment in vitro.
J. nat. Cancer Inst. 29, 597 (1962)
37. SJÖGREN H.O. and N. RINGERTZ
Histopathology and transplantability of Polyoma induced tumors in strain
A/Su and three coisogenic resistant substrains.
J. nat. Cancer inst. 28, 859 (1962)
38. STANTON M.F. and H. OTSUKA
Morphology of the oncogenic response of hamsters to Polyoma virus infection.
J. nat. Cancer Inst. 31, 365 (1963)
39. STEWART S.E.
The Polyoma virus, (Section B)
Advances in Virus Research 7, 61 (1960)
40. STEWART S.E., B.E. EDDY and N. BORGESE
Neoplasms in mice inoculated with a tumor agent carried in tissue culture.
J. nat. Cancer Inst. 20, 1223 (1958)
41. WALLACE R., E.L. JUNGHERR, A.W. MOYER
Tumor induction in C₃H and Swiss ICR mice by tissue culture preparations of
Polyoma virus.
Nature (Lond.) 197, 298 (1963)
42. YABE Y., S. NERIISHI, Y. SATO, A. LIEBELT, H.G. TAYLER and J.J. TRENTIN
Distribution of hemagglutinations-inhibiting antibodies against Polyoma virus in
laboratory mice.
J. nat. Cancer Inst. 26, 621 (1961)

Versuchstage	1-5	6-10	11-14	15-18	19-24	26-55	Tiere pro Versuchsstreife
Versuchsreihe 1 (Nr. 163) SE-P-V (Nr. 507) NMRI u. Voss-Mäuse	21 V 21 U 8 I 12 M	22 V 19 U 14 I 13 M	16 V 9 U 6 I 6 M	16 V 6 U 2 I	10 V 8 U 3 I 3 M	21 V 7 U 23 M	106 V 70 U 33 I 57 M
Versuchsreihe 2 (Nr. 164) ROWE-P-V (Nr. 534) NMRI u. Voss-Mäuse	24 V	9 V	16 V	4 V	13 V	16 V	82 V
Versuchsreihe 3 (Nr. 168) SE-P-V (Nr. 534) NMRI-Mäuse	4 V 3 U 3 I 3 M	3 V 3 U 3 I 3 M	3 V 2 U 3 I 3 M	10 V 1 U 7 I 3 M	2 V 1 I		22 V 9 U 17 I 12 M
Versuchsreihe 4 (Nr. 189) SE-P-V (Nr. 567) NMRI-Mäuse	7 V 9 U	9 V 7 U	9 V 4 U	7 V	2 V	1 V	35 V 20 U
Versuchsreihe 5 (Nr. 195) SE-P-V (Nr. 567) NMRI-Mäuse	7 V 3 U	13 V 7 U	7 V 5 U	2 V 1 U	1 V		30 V 16 U
Versuchsreihe 6 (Nr. 202) SE-P-V (Nr. 568) NMRI-Mäuse	3 V	18 V 11 U	9 V 6 U	6 V 1 U	3 V	7 V	46 V 18 U
Versuchsreihe 7 (Nr. 224) SE-P-V (Nr. 568) Voss-Mäuse			8 U	6 V	6 U	4 U	6 V 18 U
Versuchsreihe 8 (Nr. 283) SE-P-V (Nr. 568) NMRI-Mäuse		5 V	8 V	5 V 4 U	9 V	11 V 4 U	38 V 8 U
Versuchsreihe 9 (Nr. 293) SE-P-V (Nr. 568) NMRI-Mäuse						3 V 3 U	3 V 3 U
Anzahl der Tiere pro Beobachtungszeitraum	66 V 36 U 11 I 15 M	79 V 47 U 17 I 16 M	68 V 34 U 9 I 9 M	56 V 13 U 9 I 3 M	40 V 14 U 4 I 3 M	59 V 18 U 23 M	368 V 162 U 50 I 69 M

TABELLE 1: Übersicht über die histologisch ausgewerteten Versuchsmäuse, die nach den vier Versuchs- bzw. Kontrollgruppen (V, U, I, M) nach Infektionszeiträumen gegliedert sind. Die Namen in Klammern beziehen sich auf die fortlaufenden Versuche unseres Laborbuches bzw. die Nummer des Virusimpfstoffes. Die Tabelle gibt auch Auskunft über die verwendeten Mäuse (Voss-oder NMRI-Mäuse) und den Impfstoff (SE-P-V oder ROWE-P-V).

Versuchsfrage	1 - 5	6 - 10	11 - 14	15 - 18	19 - 24	25 - 55
Mäuse mit Nierenveränderung Gesamtzahl Manifestationsindex	0/66 = 0%	22/79 = 27%	23/68 = 34%	38/56 = 68%	35/40 = 86%	55/59 = 93%
Die Veränderungen gliedern sich wie folgt : 1. Beschrankt auf das Tubulusepithel	-	22 = 100%	5	1	3	-
2. Tubulusepithel und geringe Stromareaktion	-	-	17 = 74%	21 = 55%	19 = 54%	19 = 35%
3. Tubulusepithel und stärkere Stromareaktion	-	-	1	17 = 45%	15 = 43%	36 = 65%
4. Größere Anteile von Tubuli contorti	-	-	-	2	16 = 46%	37 = 67%
5. Perivaskuläre Lymphozyteninfiltrate	-	-	-	5	5	30 = 54%

T A B E L L E 2:

Zusammenstellung der histologischen Ergebnisse in der Niere bei P-V-infizierten Mäusen. Die in der ersten Rubrik angegebenen Mäuse mit Veränderungen sind in den unteren Rubriken nach den vorherrschenden Veränderungen gegliedert. Es ergibt sich vom 15. Tag an bei der Mehrzahl der Mäuse eine Veränderung. Weiter zeigt sich, dass die Veränderungen am Epithel beginnen, die Stromareaktion folgt und später, nach 19 Tagen, grosse zusammenhängende Abschnitte der Tubuli contorti häufig verändert sind, Randzelleninfiltrate ab 26. Tag bei der Hälfte der Tiere auftreten. Es zeigt sich, dass geringe Stromareaktion ab 15. Tag praktisch bei allen Tieren vorkommt und vom 15.-24. Tag bei 35%, vom 26. Tag an bei 35% der manifest erkrankten Tiere die einzige P-V-bedingte Veränderung darstellt.

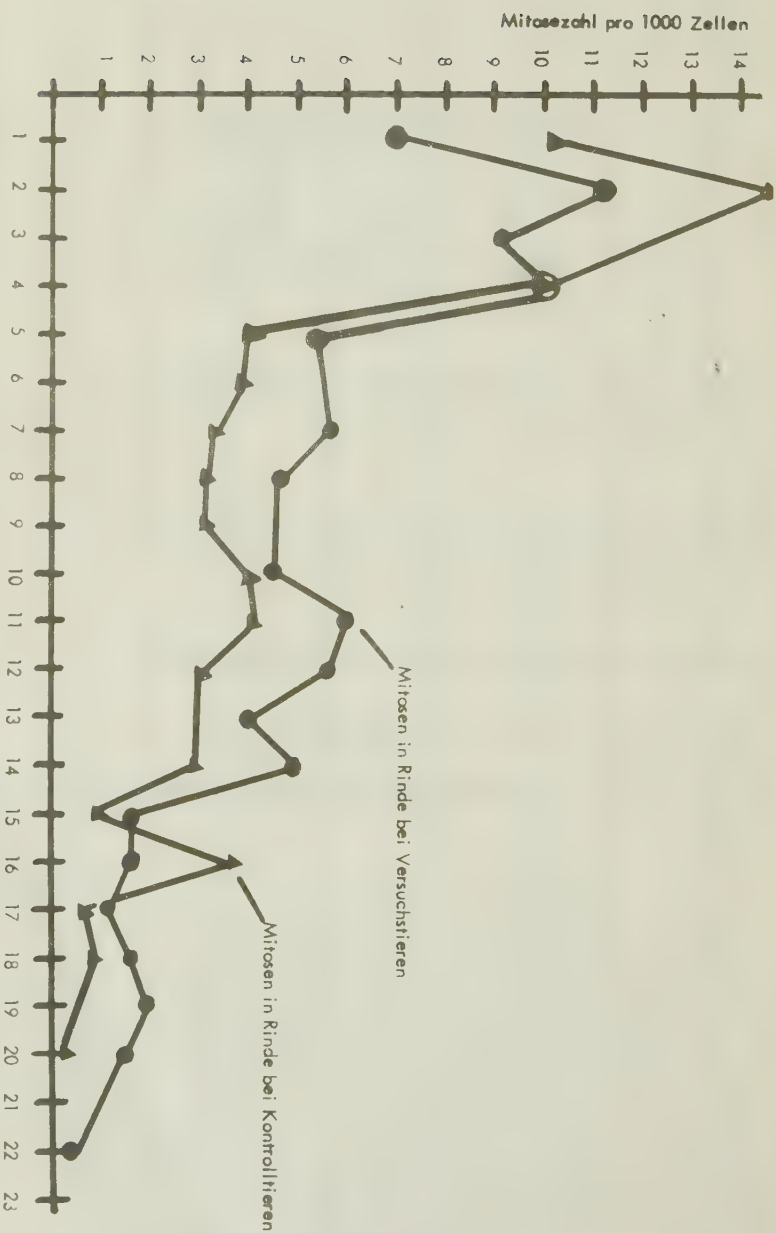


TABELLE 3:

Zahl der Feugen-Mitosen pro 1000 Zellen des Epithels und Stromas in der Niere von neugeborenen Mäusen, gegliedert nach dem Vorkommen in Rinde bei Versuch- und Kontrolltieren.

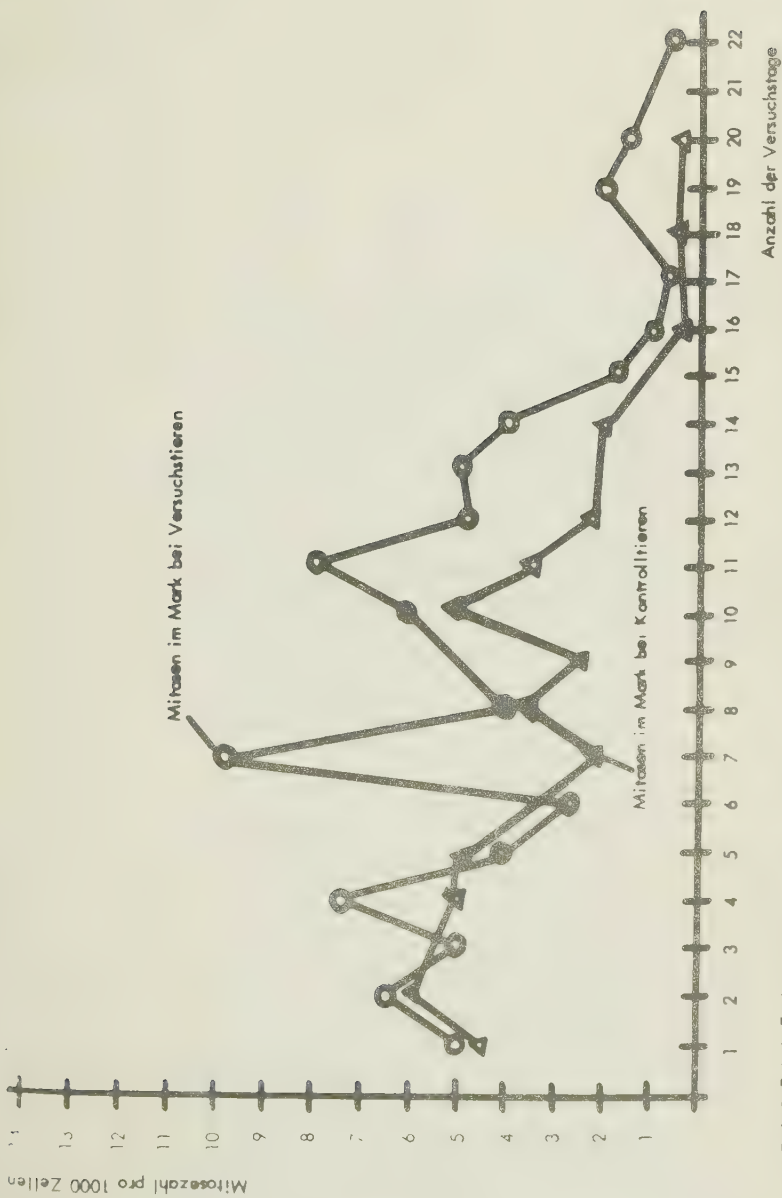


TABELLE 4:

Zahl der Folgen-Mitosen pro 1000 Zellen des Epithels und Stramas in der Niere von neugeborenen Mäusen, gegliedert nach dem Vorkommen in Mark bei Versuchs- und Kontrolltieren.

ADDENDUM

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die im Rahmen des Forschungsvorhabens Ge 121/6 gewährte Sachmittelbeihilfe.

Fräulein Gisela BACHL und Frau Evi WELSCH verdanken wir mancherlei technische Hilfe im Laboratorium.

Zum Schluss meiner Arbeit danke ich besonders Herrn Professor Dr. A. GEORGII für die Anregung und Leitung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Ich, Walter Kick, wurde am 7. August 1938 in Garching als ältestes von fünf Kindern des Schmiedemeisters Fritz Kick und seiner Frau Rita, geborene Walter, geboren. Von 1944 bis 1949 besuchte ich die Volksschule Garching. Als Oberschüler begann ich im Schuljahr 1949/50 am Alten Realgymnasium in München (1. Klasse); von 1950 bis 1955 besuchte ich als Internatsschüler das Dombgymnasium in Freising (2.-6. Klasse); die letzten drei Jahre verbrachte ich am Maxgymnasium in München, wo ich am 12. Juli 1958 die humanistische Reifeprüfung ablegte. Vom Oktober 1958 bis September 1959 leistete ich bei der Bundeswehr, Fallschirmjäger-Bataillon 261 in Sigmaringen, meinen Wehrdienst ab. Im Wintersemester 1959/60 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Medizin. Nach dem 5. Semester (April 1962) legte ich die ärztliche Vorprüfung ab, nach dem 11. Semester, am 6. August 1965, konnte ich das Studium der Medizin mit der ärztlichen Prüfung abschließen. Von Oktober 1965 bis Februar 1966 war ich im Städtischen Krankenhaus Sonthofen auf der chirurgischen Abteilung und von März 1966 bis Oktober 1966 im Kreiskrankenhaus Grafenau auf der internen Abteilung als Medizinalassistent tätig.

